

PCT/JP2004/004175

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

25. 3. 2004

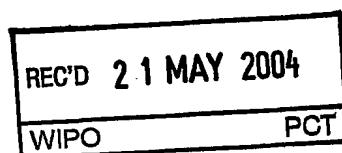
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 3 年   4 月   9 日  
Date of Application:

出 願 番 号            特 願 2 0 0 3 - 1 0 4 9 2 8  
Application Number:  
[ST. 10/C]:            [ J P 2 0 0 3 - 1 0 4 9 2 8 ]

出      願      人            独 立 行 政 法 人 理 化 学 研 究 所  
Applicant(s):

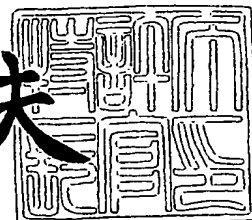


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年   4 月 3 0 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 7 3 0 1

【書類名】 特許願

【整理番号】 P03-022

【提出日】 平成15年 4月 9日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12M 1/00

【発明の名称】 固相担体への低分子化合物の固定方法

【請求項の数】 8

【発明者】

    【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

    【氏名】 長田 裕之

【発明者】

    【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 理化学研究所内

    【氏名】 叶 直樹

【特許出願人】

    【識別番号】 000006792

    【氏名又は名称】 理化学研究所

【代理人】

    【識別番号】 100107870

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 野村 健一

    【電話番号】 045-290-7480

【選任した代理人】

    【識別番号】 100098121

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 間山 世津子

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 126469

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 固相担体への低分子化合物の固定方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の工程を含むことを特徴とする低分子化合物の固相担体への固定方法。

(1) 光反応性化合物が表面に結合している固相担体に、低分子化合物を含む溶液を接触させる工程

(2) 低分子化合物を含む溶液を、固相担体に接触させた状態で乾固させる工程

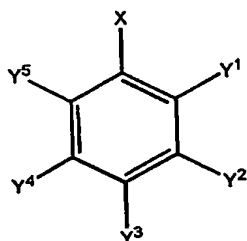
(3) 固相担体に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる工程

【請求項 2】 光反応性化合物が、ナイトレン、カルベン、ラジカル、又は炭素求電子剤を発生し得る化合物であることを特徴とする請求項 1 記載の低分子化合物の固相担体への固定方法。

【請求項 3】 光反応性化合物が、ジアゾニウム基、アジド基、ジアジリン環、又はジアゾ基を部分構造として含む化合物であることを特徴とする請求項 1 記載の低分子化合物の固相担体への固定方法。

【請求項 4】 光反応性化合物が、式 (I) :

【化 1】



(I)

〔式中、Xは、 $-\text{N}_3$ 、 $-\text{C}^*(\text{R}^1)\text{N}=\text{N}^*$  (\*同士は連結して三員環を形成する)、 $-\text{N}_2^+ \text{Z}^-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^2)=\text{O}$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}_3$ 、 $-\text{Cl}$ 、又は $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}=\text{N}_2$ を表し； $\text{R}^1$ は、水素原子、置換基を有していてもよいアルキル基、又は置換基を有していてもよいアリール基を表し； $\text{R}^2$ は置換基を有していてもよいアリール基； $\text{Z}^-$ は陰イオンを表し； $\text{Y}^1$ 、 $\text{Y}^2$ 、 $\text{Y}^3$ 、 $\text{Y}^4$ 、及び $\text{Y}^5$ のいずれか

一つは固相担体表面に担持された官能基と反応して共有結合を形成しうる基を表し、他の四つはそれぞれ独立して水素原子又はハロゲン原子を表す。]

で表される化合物であることを特徴とする請求項1記載の低分子化合物の固相担体への固定方法。

【請求項5】 固相担体が、マイクロアレイ用基板であることを特徴とする請求項1乃至4のいずれか一項記載の低分子化合物の固相担体への固定方法。

【請求項6】 請求項5記載の方法によって得られる低分子マイクロアレイ

。 【請求項7】 以下の工程を含むことを特徴とする低分子化合物と相互作用をする物質の検出方法。

(1) 請求項6記載の低分子マイクロアレイに、標識された試料物質を含む溶液を接触させる工程

(2) 低分子化合物と結合しない物質を除去する工程

(3) 試料物質の標識を検出する工程

【請求項8】 以下の工程を含むことを特徴とする低分子化合物における相互作用部位の特定方法。

(1) 光反応性化合物と、特定物質と相互作用をする低分子化合物を混合する工程

(2) 前記混合物に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる工程

(3) 光反応性化合物と低分子化合物の複合体を、低分子化合物の結合部位の違いにより分別する工程

(4) 分別された前記複合体をそれぞれマイクロアレイ用基板に固定する工程

(5) 前記基板上に固定された複合体に、標識された前記特定物質を含む溶液を接触させる工程

(6) 基板上に固定された複合体のうち、標識が検出されないものを選択し、その結合体の低分子化合物と光反応性化合物との間の結合部位を特定する工程

【発明の詳細な説明】

【0001】

**【発明の属する技術分野】**

本発明は、低分子化合物の固相担体への固定方法、並びにこの方法により得られる低分子マイクロアレイ、この方法を利用した低分子化合物と相互作用をする物質の検出方法、及び低分子化合物における相互作用部位の特定方法に関する。

**【0002】****【従来の技術】**

ガラススライドに代表される基板に、低分子化合物を微量ずつ多種類導入し固定化した低分子マイクロアレイは、酵素等のタンパク質の阻害剤開発や機能解明のツールとして有用である。しかし現在までの低分子マイクロアレイ製造手法では、低分子化合物を固定化するには低分子側に水酸基やアミノ基等の官能基を一律に必要とするため、これらの官能基を一様に有した合成コンビナトリアルライブラリー化合物群のみアレイ化が可能であった（非特許文献1）。また、低分子化合物中、これらの官能基を含んだ部分構造は、基板との結合面に面しており、アレイ上でのタンパク質との結合実験においては無視されるが、低分子化合物をアレイ上から切り出し溶液中に溶解させた場合、またアレイに固定化させる前の化合物をバッファー等に溶解させた場合に、この部分と不特定のタンパク質との相互作用の可能性が生じるため、医薬開発の段階において副作用の原因となることが考えられた。

**【0003】**

ところで、DNAを固相担体上に固定するに当たり、光反応性化合物を利用することが既に報告されている（特許文献1）。この固定化方法を低分子マイクロアレイの作製法に適用すれば、上述した従来の低分子マイクロアレイ作製方法の問題点を解決できると考えられる。しかしながら、現在までのところ、前述したDNAの固定化方法を低分子化合物に適用したような事例は全く報告されていない。

**【0004】****【特許文献1】**

特開2001-178472号公報

**【0005】****【非特許文献1】**

MacBeath et al., J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 7967

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

上述のように従来の低分子マイクロアレイの作製方法では、固定化可能な低分子は特定の官能基を持った一群の分子群に限定され、また、基板との結合に使われる官能基を含む部分構造は、アレイ上でのタンパク質等との結合実験では無視されてしまう。

【0007】

本発明は以上のような技術的背景の下になされたものであり、上記問題点を解消した低分子マイクロアレイの作製手段を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意検討を重ねた結果、低分子化合物を、光反応性化合物を利用して基板上に固定することにより、官能基に依存せずに低分子化合物を固定できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】

即ち、本発明は、以下の工程を含むことを特徴とする低分子化合物の固相担体への固定方法である。

- (1) 光反応性化合物が表面に結合している固相担体に、低分子化合物を含む溶液を接触させる工程
- (2) 低分子化合物を含む溶液を、固相担体に接触させた状態で乾固させる工程
- (3) 固相担体に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる工程

また、本発明は、上記方法によって得られる低分子マイクロアレイである。

【0010】

更に、本発明は、以下の工程を含むことを特徴とする低分子化合物と相互作用をする物質の検出方法である。

- (1) 上記低分子マイクロアレイに、標識された試料物質を含む溶液を接触させる工程

(2) 低分子化合物と結合しない物質を除去する工程

(3) 試料物質の標識を検出する工程

更に、本発明は、以下の工程を含むことを特徴とする低分子化合物における相互作用部位の特定方法である。

(1) 光反応性化合物と、特定物質と相互作用をする低分子化合物を混合する工程

(2) 前記混合物に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる工程

(3) 光反応性化合物と低分子化合物の複合体を、低分子化合物の結合部位の違いにより分別する工程

(4) 分別された前記複合体をそれぞれマイクロアレイ用基板に固定する工程

(5) 前記基板上に固定された複合体に、標識された前記特定物質を含む溶液を接触させる工程

(6) 基板上に固定された複合体のうち、標識が検出されないものを選択し、その結合体の低分子化合物と光反応性化合物との間の結合部位を特定する工程

#### 【0011】

##### 【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

#### 【0012】

本発明の低分子化合物の固相担体への固定方法は、以下の(A-1)～(A-3)の工程を含むことを特徴とするものである。

#### 【0013】

工程(A-1)では、光反応性化合物が表面に結合している固相担体に、低分子化合物を含む溶液を接触させる。

#### 【0014】

光反応性化合物は、光照射により活性化され、低分子化合物との間に共有結合を形成できるものであれば特に限定されず、例えば、以下の(a)～(c)の一群の化合物を挙げることができる。

(a)ナイトレン、カルベン、ラジカル、又は炭素求電子剤を発生し得る化合物

これらの活性種を発生し得る化合物は、特開2001-178472号公報、1995年発行のテトラヘドロン誌 (Tetrahedron) 第51巻、12479-12520ページのS.A.Flemigの著した総説、および1998年発行の有機合成化学協会誌、第56巻581-590ページの畑中保丸の著した総説などに記載されている。例えば、ナイトレンを発生する化合物としては、芳香族アジド、アルキルアジド、ヘテロ環アジドなどのアジド基を有する化合物であり、カルベンを発生する化合物としてはジアゾ基またはジアジリン環を有する化合物であり、ラジカルを発生する化合物としてはベンゾフェノン類やエノン類のような共役ケトン類、芳香族ハロゲン化物類、オレフィン類などであり、炭素求電子剤を発生する化合物としては芳香族ジアゾニウム塩、ニトロベンゼン類、スルホニウム塩、ホスホニウム塩、アンモニウム塩などである。

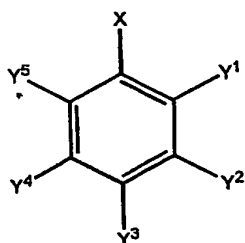
(b) ジアゾニウム基、アジド基、ジアジリン環、又はジアゾ基を部分構造として含む化合物

これらの部分構造を持つ化合物も前述した特開2001-178472号公報などに記載されている。

(c) 式 (I) :

【0015】

【化2】



(I)

〔式中、Xは、 $-N_3$ 、 $-C^*(R^1)N=N^*$  (\*同士は連結して三員環を形成する)、 $-N_2^+Z^-$ 、 $-C(R^2)=O$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-C(=O)N_3$ 、 $-Cl$ 、又は $-NH-CH_2-CO-CH=N_2$ を表し； $R^1$ は、水素原子、置換基を有していてもよいアルキル基、又は置換基を有していてもよいアリール基を表し； $R^2$ は置換基を有していてもよいアリール基を表し； $Z^-$ は陰イオンを表し； $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 、 $Y^4$ 、及び $Y^5$ のいずれか

一つは固相担体表面に担持された官能基と反応して共有結合を形成しうる基を表し、他の四つはそれぞれ独立して水素原子又はハロゲン原子を表す。]

で表される化合物

【0016】

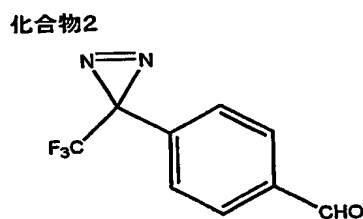
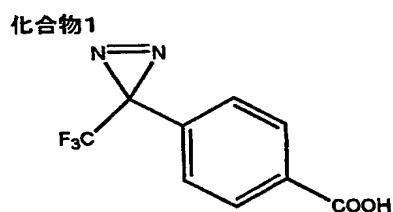
一般式 (I) で表される化合物において、 $R^1$  で表される基は好ましくは炭素原子数が 1 乃至 6 の置換基を有していてもよいアルキル基、炭素原子数が 6 乃至 12 の置換基を有していてもよいフェニル基であり、特に好ましくはフッ素原子などの電子吸引基で置換されたアルキル基である。 $R^2$  で表される基は好ましくはフェニル基である。 $Z^-$  で表される陰イオンは好ましくはハロゲン化物イオン、四フッ化ホウ素イオン、又は六フッ化リン酸イオンである。固相担体表面に担持された官能基と反応して共有結合を形成しうる基は、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 、 $Y^4$ 、 $Y^5$  のいずれでもよいが、 $Y^3$  であることが好ましい。固相担体表面に担持された官能基と反応して共有結合を形成しうる基として好ましいものは、カルボキシル基、ホルミル基、活性エステル基、水酸基、チオール、スルフィド、アミノ基、ハロゲン置換アルキル基、トリアルコキシシリル基、およびこれらの置換基を有する基である。

【0017】

一般式 (I) で表される化合物の具体例として、以下の化合物 1 ~ 化合物 27 を例示できるが、これらに限定されるわけではない。

【0018】

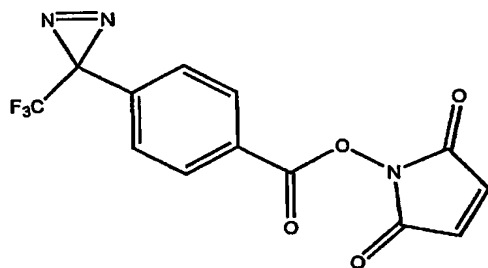
【化3】



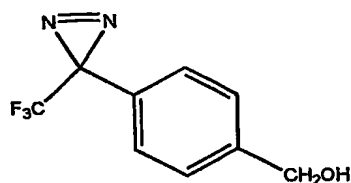
【0019】

【化 4】

化合物3



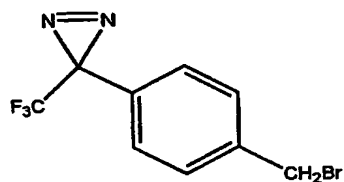
化合物4



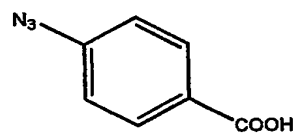
【0020】

【化 5】

化合物5



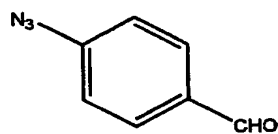
化合物6



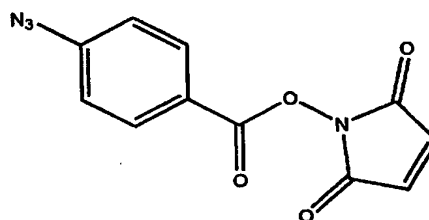
【0021】

【化 6】

化合物7



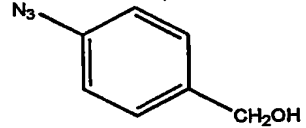
化合物8



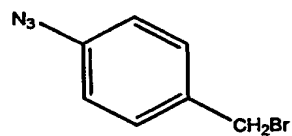
【0022】

【化 7】

化合物9



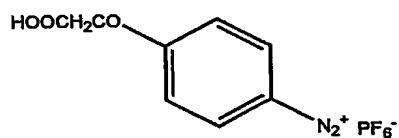
化合物10



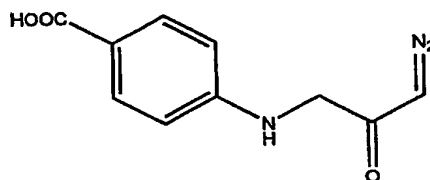
【0023】

## 【化8】

化合物11



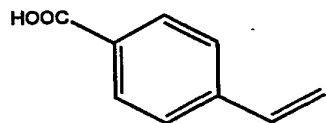
化合物12



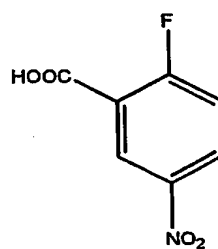
【0024】

## 【化9】

化合物13



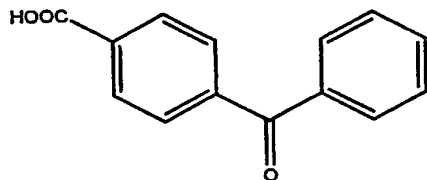
化合物14



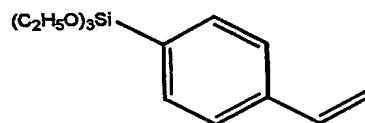
【0025】

## 【化10】

化合物15



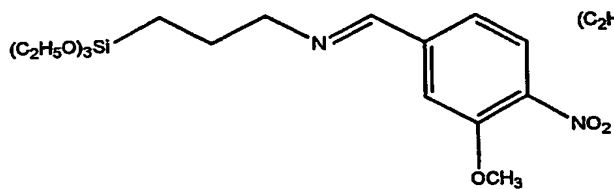
化合物16



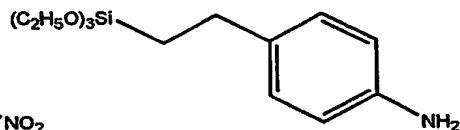
【0026】

## 【化11】

化合物17



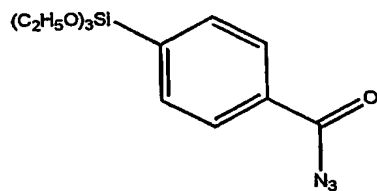
化合物18



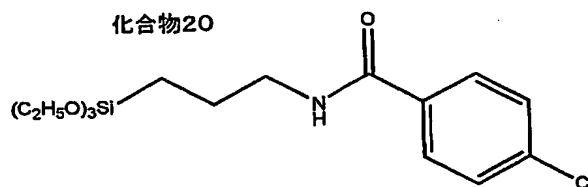
【0027】

【化12】

化合物19



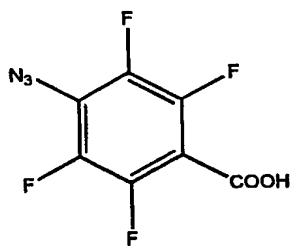
化合物20



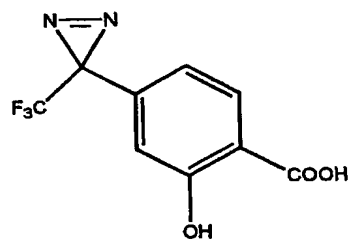
【0028】

【化13】

化合物21



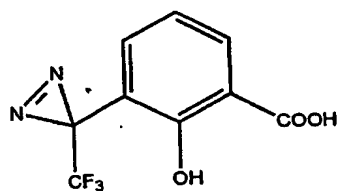
化合物22



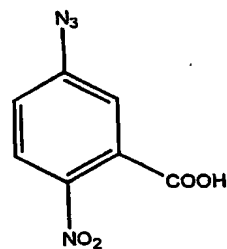
【0029】

【化14】

化合物23



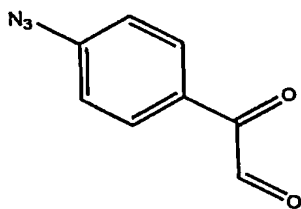
化合物24



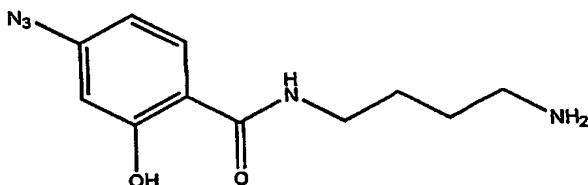
【0030】

## 【化15】

化合物25



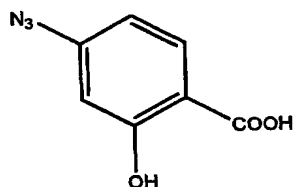
化合物26



## 【0031】

## 【化16】

化合物27



## 【0032】

光反応性化合物を、固相担体表面に結合させる手段は特に限定されず、例えば、特開2001-178472号公報記載の方法に従って行うことができる。光反応性化合物は、固相担体表面に直接結合させることが好ましいが、別の化合物を固相担体表面に結合させ、その化合物を介して結合させてもよい。また、光反応性化合物自体を結合させるのではなく、その前駆体を固相担体表面に結合させ、その後、適当な反応処理を施すことにより光反応性化合物に変換させてもよい。

## 【0033】

固相担体は、光反応性化合物を結合させ得るものであればどのようなものでもよく、マイクロアレイ用基板、ビーズ、繊維、管、容器（試験管やバイアル）などを固相担体とすることができ、これらの中でもマイクロアレイ用基板が最も好ましい。低分子化合物を固定化したマイクロアレイ用基板は、低分子マイクロアレイとして、タンパク質などの検出に使用することができる。固相担体の材質としては、ガラス、セメント、陶磁器等のセラミックスもしくはニューセラミック

ス、ポリエチレンテレフタレート、酢酸セルロース、ビスフェノールAのポリカーボネート、ポリスチレン、ポリメチルメタクリレート等のポリマー、シリコン、活性炭、多孔質ガラス、多孔質セラミックス、多孔質シリコン、多孔質活性炭、織物、編み物、不織布、濾紙、短繊維、メンブレンフィルター等の多孔質物質、金などの導電性材料などを拳げることができ、これらの中でもガラス、シリコン、金などが好ましい。固相担体の表面は、アミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシ基などを導入するため、ポリ陽イオンなどのポリマーによる被覆処理、あるいは固相担体表面への導入置換基を有するシランカップリング剤による処理が施されていてもよい。あるいはプラズマ処理により反応性官能基が導入されていてもよい。

#### 【0034】

本発明における低分子化合物とは、主に炭素、水素、酸素、窒素、硫黄を主成分の原子とする有機化合物で、オリゴ糖、ポリペプチド等の1次代謝産物、また、脂肪酸、ポリケチド（アセトゲニン）、イソプレノイド、フェニルプロパノイド、アルカロイド等の2次代謝産物、また、芳香環、複素環を含む分子量2000程度までの合成有機化合物、またはこれらの複合体などを指し、主にタンパク質と結合することでそのタンパク質の機能を阻害もしくは昂進する可能性を有するものをいう。

#### 【0035】

低分子化合物溶液の調製に用いる溶媒は、低分子化合物の種類に応じて適宜決めることができ、例えば、水、ジメチルスルホキシド（DMSO）、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）、ジオキサン、アセトニトリル、クロロホルムなどを使用することができる。また、低分子化合物溶液の濃度は、低分子化合物や溶媒の種類、あるいは接触の方法により異なるが、例えば、分子量500程度のポリケチドのDMSO溶液を固相担体上に滴下する場合は0.1～10 mM程度、分子量1200程度のポリペプチドのDMSO溶液を固相担体上に滴下する場合は0.1～100 mM程度である。

#### 【0036】

低分子化合物溶液を、固相担体と接触させる方法は、光照射により低分子化合物を固相担体に固定できる方法であればどのようなものでもよく、例えば、固相

担体がマイクロアレイ用基板の場合、低分子化合物を含む溶液をこの基板上に滴下すればよい。このときの滴下量は、低分子化合物の種類や溶液の濃度などにより異なるが、1 nL~0.2  $\mu$ L程度である。

#### 【0037】

工程(A-2)では、低分子化合物を含む溶液を、固相担体に接触させた状態で乾固させる。

#### 【0038】

溶液を乾固させる方法は特に限定されず、自然乾燥によって乾固させてもよいが、真空ポンプ等を用いて人為的に乾燥させることが好ましい。

#### 【0039】

溶液を乾固させることにより、低分子化合物と光反応性基が密接に接近し、低分子化合物が、様々な部位で光反応性化合物と結合するようになる。これは、低分子化合物のあらゆる部位を固相担体の表面に露出していることになり、低分子化合物の分子全体の性質(結合能など)を調べることが可能になる。また、溶液の乾固により、低分子化合物の分子密度が高くなり、光反応性化合物との反応効率が向上するという効果も得られる。

#### 【0040】

工程(A-3)では、固相担体に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる。

#### 【0041】

照射する光の波長は、光反応性化合物の種類に応じて決めればよく、通常、200~400nmの範囲の波長、好ましくは360nm付近の波長の光を照射する。光源は太陽光、水銀灯などの電灯光、レーザー光(半導体レーザー、固体レーザー、ガスレーザー)、発光ダイオードの発光、エレクトロルミネッセント素子の発光などが利用できる。光照射の方法は、水銀灯などの光源からの光を必要に応じて適当なフィルターを介して固相担体表面に均一に照射することもできるし、いわゆるマスクを用いて所望の形状のパターン露光をしてもよい。または、光をレンズや鏡を用いて集光し、微細な形状に照射してもよい。または、集光した光線を走査露光してもよい。照射時間は特に限定されない。

## 【0042】

光照射後の固相担体は、適当な溶媒又はバッファーで洗い、固定されなかった低分子化合物を除去する。これにより、低分子化合物が固定された固相担体を得ることができる。

## 【0043】

本発明の固定方法は、以下に述べる「低分子化合物と相互作用をする物質の検出方法」及び「低分子化合物における相互作用部位の特定方法」に応用できる。

## 【0044】

本発明の低分子化合物と相互作用をする物質の検出方法は、以下の(B-1)～(B-3)の工程を含むことを特徴とするものである。

## 【0045】

工程(B-1)では、上述の本発明の固定方法により得られる低分子マイクロアレイに、標識された試料物質を含む溶液を接触させる。

## 【0046】

試料物質は特に限定されないが、主としてタンパク質などの生体物質を使用する。試料物質の標識方法も特に限定されず、RI法で標識してもよいし、非RI法（蛍光法、ビオチン法等）で標識してもよい。

## 【0047】

試料物質溶液の調製に用いる溶媒は、試料物質の種類に応じて適宜決めることができ、例えば、水、リン酸バッファー、酢酸バッファー、トリスバッファーなどを使用することができる。また、試料物質溶液の濃度は、低分子化合物や溶媒の種類により異なるが、例えば、分子量160,000程度の蛍光標識化タンパク質のバッファー溶液の場合は10～100  $\mu\text{g/mL}$ 程度である。

## 【0048】

試料物質溶液を、低分子マイクロアレイと接触させる方法は特に限定されず、例えば、試料物質溶液をマイクロアレイ上に滴下すればよい。このときの滴下量は、試料物質の種類や溶液の濃度などにより異なるが、0.1～1  $\mu\text{L} \cdot \text{mm}^{-2}$ 程度である。

## 【0049】

工程 (B-2) では、低分子化合物と結合しない物質を除去する。

【0050】

低分子化合物と結合しない物質の除去は、適当なバッファーや溶媒等で洗浄することにより行う。

【0051】

工程 (B-3) では、試料物質の標識を検出する。

【0052】

標識の検出は、標識物質の種類に応じて行うことができる。例えば、蛍光物質により標識した場合は、蛍光スライドスキャナーなどにより検出することができる。

【0053】

この工程で、標識が検出されれば、試料物質は低分子化合物と相互作用をする物質であると判断することができ、標識が検出されなければ試料物質は低分子化合物と相互作用をしない物質であると判断することができる。

【0054】

従来のマイクロアレイ法は、特定の官能基を利用して低分子化合物を固相担体に固定するが、その際、官能基を含んだ部分構造は固相担体との結合面を向いており、固相担体の表面には露出しない。従って、その官能基を含んだ部分構造が試料物質との相互作用に関与しているような場合には、実際には試料物質と相互作用をする低分子化合物であっても、それを相互作用をしないものとして判断してしまう可能性がある。本発明の検出方法では、低分子化合物のあらゆる部分が基板表面に露出しているマイクロアレイを用いるので、前述したような誤った判断をする可能性がなく、高い精度で低分子化合物と相互作用をする物質を検出することができる。

【0055】

本発明の低分子化合物における相互作用部位の特定方法は、以下の工程 (C-1) ~ (C-6) を含むことを特徴とするものである。

【0056】

工程 (C-1) では、光反応性化合物と、特定物質と相互作用をする低分子化

合物を混合する。

【0057】

光反応性化合物は、その形態が粉末状、油状を問わず、本発明の固定化方法と同様のものを使用できる。

【0058】

低分子化合物は、本発明の固定化方法と同様の化合物を使用できるが、この方法ではそのような化合物の中でも特に既に特定物質と相互作用をすることが確認されているものを使用する。

【0059】

工程（C-2）では、前記混合物に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる。

【0060】

この工程は、本発明の固定方法の（A-3）工程と同様に行うことができる。

【0061】

工程（C-3）では、光反応性化合物と低分子化合物の複合体を、低分子化合物の結合部位の違いにより分別する。

【0062】

複合体を分別する方法は特に限定されず、例えば高速液体クロマトグラフィーにより分別することができる。

【0063】

工程（C-4）では、分別された前記結合体をそれぞれマイクロアレイ用基板上に固定する。

【0064】

結合体をマイクロアレイ用基板上に固定する方法は常法に従って行うことができ、固相担体表面に担持された官能基を利用して固定化することが可能である。

【0065】

工程（C-5）では、前記基板上に固定された複合体に、標識された前記特定物質を含む溶液を接触させる。

【0066】

この工程は、本発明の検出方法の（B-1）工程と同様に行うことができる。但し、基板に接触させる物質は、低分子化合物と相互作用をするかどうかかわからない物質（試料物質）ではなく、低分子化合物と相互作用をすることが確認されている物質である。

#### 【0067】

工程（C-7）では、基板上に固定された複合体のうち、標識が検出されないものを選択し、その結合体の低分子化合物と光反応性化合物との間の結合部位を特定する。

#### 【0068】

結合部位を特定する方法としては、例えば、マススペクトル、核磁気共鳴スペクトルなどによって行うことができる。

#### 【0069】

以上の低分子化合物における相互作用部位の特定方法を図1を用いて説明する。図中の低分子化合物は、SH基を持っており、この基が特定物質との相互作用に参与している。工程（C-1）及び（C-2）により、低分子化合物は、光反応性化合物と結合する。このとき、低分子化合物は、SH基の部分だけでなく、様々な部位で光反応性化合物と結合する（図1b）。低分子化合物と光反応性化合物の結合体群は、工程（C-3）～工程（C-4）により分別され、基板上に固定される。低分子化合物に特定物質を接触させると、本来ならばすべての低分子化合物は特定物質と相互作用するはずであるが、一部の低分子化合物は相互作用をしない（図1c）。この特定物質と相互作用をしない低分子化合物の構造を遡って解析すれば（図1b）、低分子化合物において、特定物質と相互作用をしていた部位（この図ではSH基）を特定できる。

#### 【0070】

低分子化合物のどの部位が、タンパク質等との相互作用に参与しているのかを特定することは、医薬等の開発において非常に重要である。従来このような部位の特定は、低分子化合物中に存在する官能基を一つずつ変換して相互作用の有無を調べるといった煩雑な作業が必要であった。しかし、本発明の方法によれば、そのような煩雑な作業は不要であり、一回の作業で相互作用をする部位を特定す

ることができる。

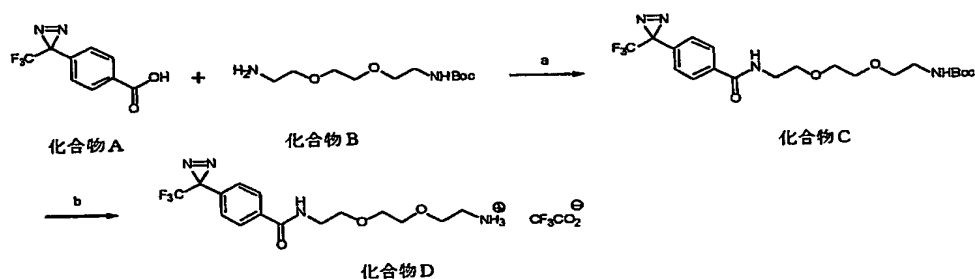
【0071】

【実施例】

〔実施例 1〕 光親和性原子団へのポリエチレングリコールリンカーの導入

【0072】

【化 17】



(a) EDCI·HCl, DMAP, DMF, r.t., 20 h, 83%; (b) CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t., 70 min.

4-(3-トリフルオロメチル-3H-ジアジリン-3-イル)-安息香酸 (化合物 A) (17.9mg、72.0  $\mu$ mol)、{2-[2-(2-アミノ-エトキシ)-エトキシ]-エチル}-カルバミン酸tert-ブチルエステル (化合物 B) (73.8mg、297  $\mu$ mol、4.1eq)、N,N-ジメチルアミノピリジン (3.1mg、25.4  $\mu$ mol、0.35eq) の無水THF溶液 (1mL) に室温で1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (24.1mg、126  $\mu$ mol、1.7eq) を加え、暗所で20時間攪拌した。溶媒を減圧下留去後、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (1g、クロロホルム：メタノール=25：1) で精製して[2-(2-{2-[4-(3-トリフルオロメチル-3H-ジアジリン-3-イル)-ベンゾイルアミノ]-エトキシ}-エトキシ)-エチル]-カルバミン酸tert-ブチルエステル (化合物 C) を27.6mg (59.9  $\mu$ mol、収率83%) 得た。

【0073】

得られた化合物 C (27.6mg、59.9  $\mu$ mol) をジクロロメタン (1mL) とトリフルオロ酢酸 (150  $\mu$ L) に溶解させ、室温で70分間攪拌した。溶媒を減圧下で留去後、逆相カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=4:1メタノール) で精製し、N-{2-[2-(2-アミノ-エトキシ)-エトキシ]-エチル}-4-(3-トリフルオロメチル-3H-ジアジリン-3-イル)-ベンズアミドのトリフルオロ酢酸塩 (化合物 D) を21.1

mg (44.5mmol、収率74%) 得た。

化合物D: 無色油状物質、 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.90(2H, brd,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 7.34(2H, d,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 3.62-3.71(8H, m), 3.58(2H, t,  $J=4.8\text{Hz}$ ), 3.07(2H, t,  $J=5.6\text{Hz}$ ).

#### 【0074】

##### 〔実施例2〕 ガラス基板の修飾

アミノ化スライドガラス〔松浪ガラス製DNAマイクロアレイ用コートスライドガラス(高密度アミノ基導入タイプ1スライド) 76x26mm〕上に、N,N'-ジスクシンイミジル カルボネート (74.2mg、290  $\mu\text{mol}$ )、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (48mL、276  $\mu\text{mol}$ )、DMF (600  $\mu\text{L}$ ) の混合液を、 $0.18\mu\text{L}\cdot\text{mm}^{-2}$ の割合で添加し、室温で16時間処理した。処理後のスライドガラスを順にエタノール、脱イオン水、エタノール、脱イオン水で各10分間洗浄後、脱水遠心機 (400xg) で1分間脱水し、更に真空乾燥させ、スクシンイミジル化スライドを得た。

#### 【0075】

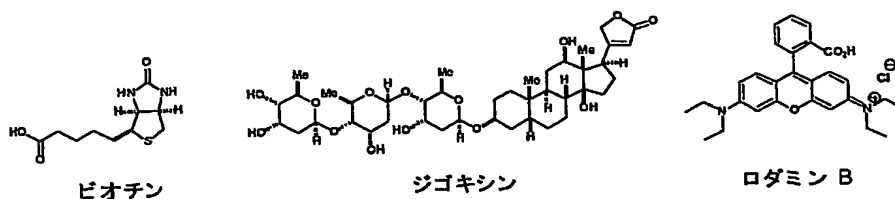
得られたスクシンイミジル化スライド上に、N-{2-[2-(2-アミノ-エトキシ)-エトキシ]-エチル}-4-(3-トリフルオロメチル-3H-ジアジリン-3-イル)-ベンズアミドのトリフルオロ酢酸塩 (化合物D) (17.4mg、36.7  $\mu\text{mol}$ )、N,N-ジイソプロピルアミン (40  $\mu\text{L}$ 、230  $\mu\text{mol}$ )、DMF (360  $\mu\text{L}$ ) の混合液を $0.11\mu\text{L}\cdot\text{mm}^{-2}$ の割合で添加し、暗所、室温で14時間処理した。スライド上に残った過剰の試薬をエタノール、脱イオン水で順に除去し、脱水遠心機 (400xg) で1分間脱水した。このスライドにエタノールアミンの1M DMF溶液を $72\text{nL}\cdot\text{mm}^{-2}$ の割合で添加し、プロッキング処理を暗所、室温で1時間行った。スライド上に残った過剰の試薬をエタノール、脱イオン水で順に除去し、脱水遠心機 (400xg) で1分間脱水して、光親和性原子団導入スライドを得た。以上のガラス基板の修飾工程の概要を図2に示す。

#### 【0076】

##### 〔実施例3〕 低分子化合物の固定化

#### 【0077】

## 【化18】



光親和性原子団導入スライド上に、あらかじめ100、10、1、0.1、0.01mMに調製された低分子化合物（ビオチン、ロダミンB、ジゴキシン）の各DMSO溶液を各0.2 $\mu$ Lずつスポットした。このスライドを35℃のインキュベーターで3時間乾燥させた後、真空ポンプを用いて20時間乾燥させた。このスライドに365 nm の紫外線を30分間照射した後、スライド上に固定化されなかった過剰の低分子化合物をエタノールで洗い流した。更にこのスライドをエタノール、DMF、THF、エタノール、脱イオン水（各1時間）に順に浸して震盪洗浄し、低分子が固定化されたスライドを得た。

## 【0078】

## 〔実施例4〕 低分子-タンパク質間結合の検出

低分子固定化スライドに、タンパク質溶液（162 $\mu$ g/mL 抗ジゴキシンモノクローナル抗体クローンDI-22-FITC結合体、3.7 $\mu$ g/mL ストレプトアビジン-Alexa Fluor 633結合体、1% (w/v) スキムミルク、77mM NaCl、0.05% (w/v) Tween 20、50mM Tris-HCl、pH 7.5）を0.18mL $\cdot$ mm<sup>-2</sup>の割合で添加し、室温下1時間処理した。このスライドを洗浄バッファー（77mM NaCl、0.05% (w/v) Tween 20、50mM Tris-HCl、pH 7.5）で3回震盪洗浄した後、脱イオン水ですすぎ、脱水遠心機（400xg）で1分間脱水した。このスライドを波長が各々488、532、635nmの光で励起させ、生じた蛍光を蛍光スライドスキャナーを用いて観測した。この結果を図3に示す。図3において、左列の画像はタンパク質溶液に浸す前のスライドを蛍光スキャナーで観測したものであり、右列の画像はタンパク質溶液で処理後に蛍光スキャナーで観測したものである。

## 【0079】

図3に示すように、635nmの波長の光を照射した場合は、ビオチン溶液をスポットした部分にのみ蛍光が検出され、ビオチンがタンパク質（ストレプトアビジン）

ン-Alexa Fluor 633結合体) と結合したことが確認された。また、488nmの波長の光を照射した場合は、ジゴキシン溶液をスポットした部分にのみ蛍光が検出され、ジゴキシンがタンパク質 (抗ジゴキシンモノクローナル抗体クローンDI-22-FITC結合体) と結合したことが確認された。

#### 【0080】

##### 【発明の効果】

本発明の固定方法は、官能基非依存的に低分子化合物を固定できるので、従来の固定方法よりも、多様な化合物を固定化できる。また、固定される低分子化合物は、分子中の様々な部位で、固相担体と結合しているので、低分子化合物のあらゆる部分が固相担体表面に露出することになり、この結果、低分子化合物の分子全体の結合性等を調べることが可能になる。

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

本発明の低分子化合物における相互作用部位の特定方法を模式的に表した図である。

##### 【図2】

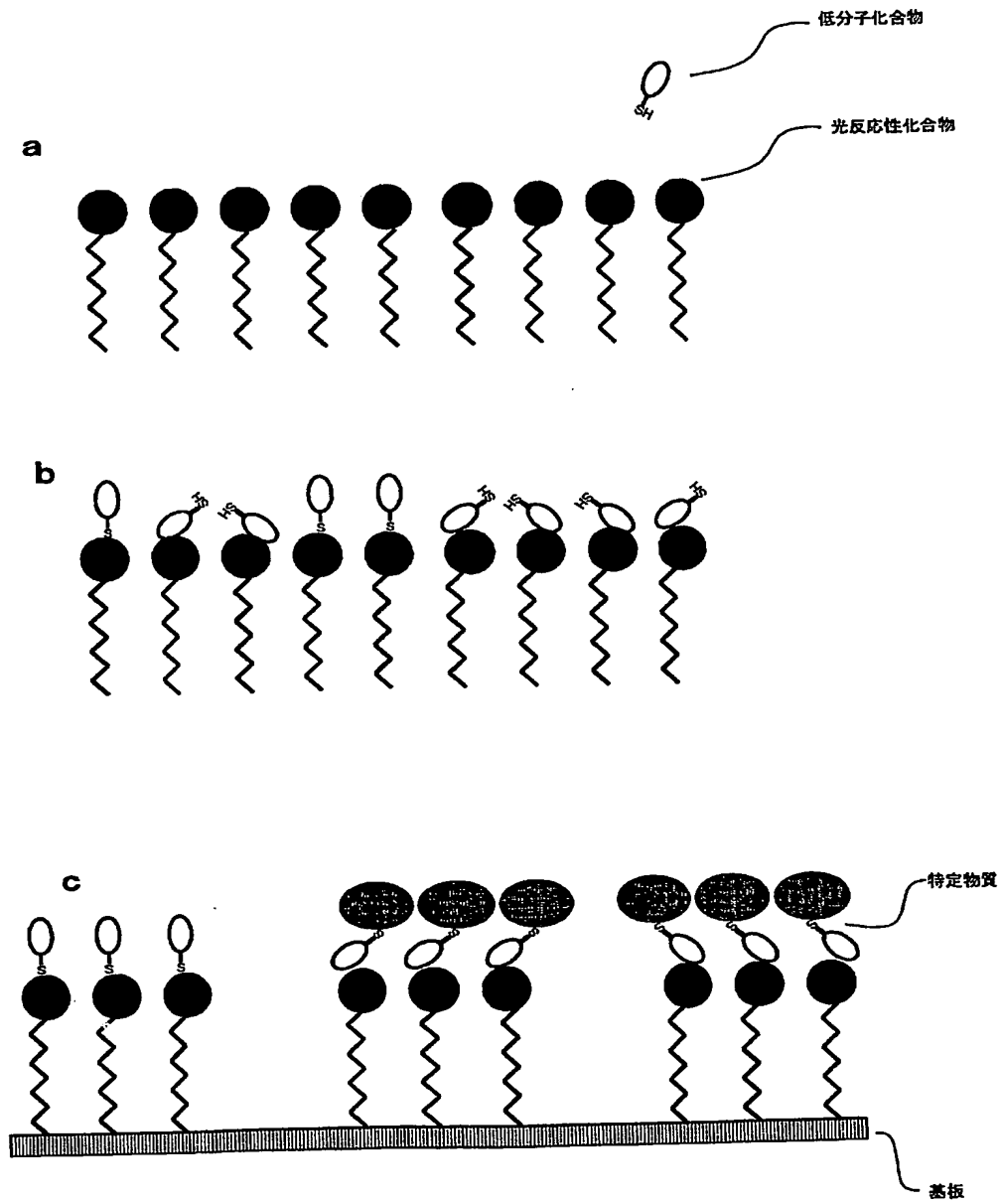
ガラス基板の修飾工程の概要を示す図である。

【図3】 488nm、532nm、635nmの波長の光を照射した低分子固定化スライドを、蛍光スキャナーで観測した画像である。

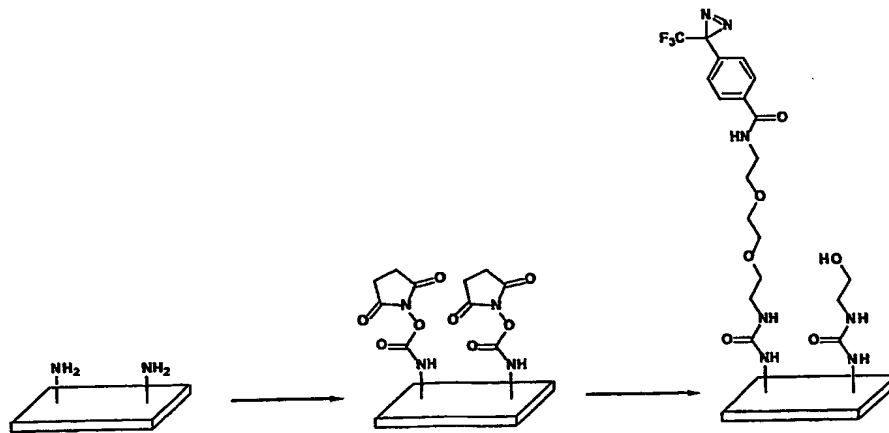
【書類名】

図面

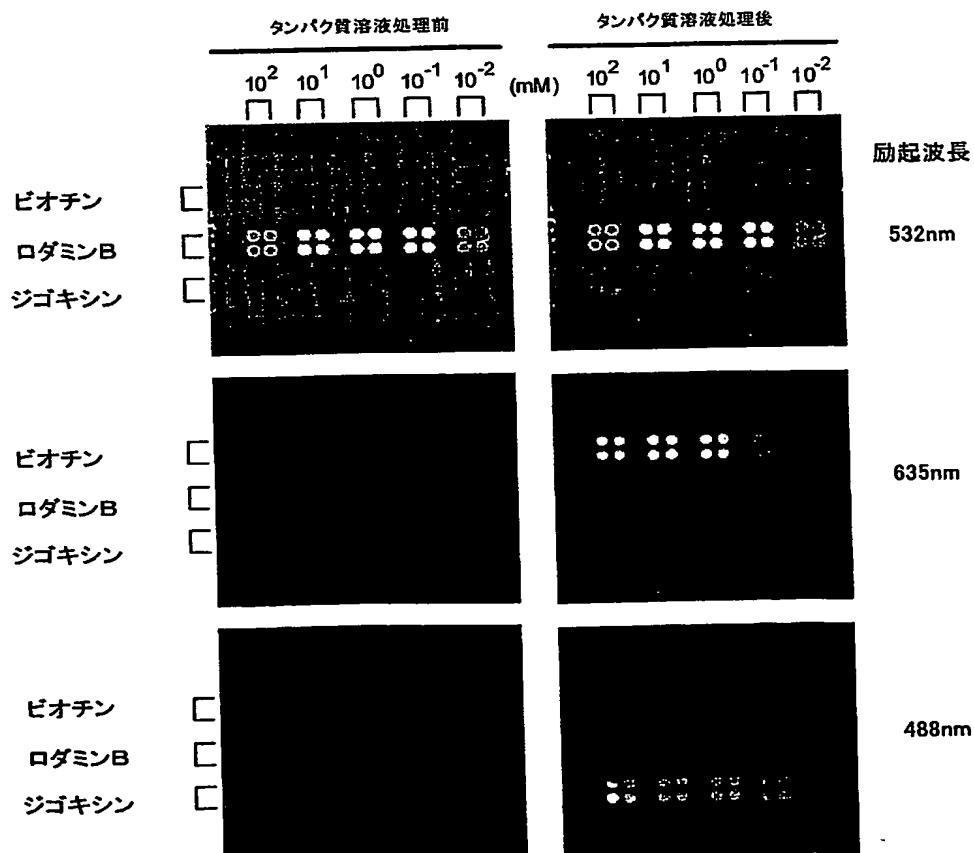
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 官能基に依存しない低分子化合物の固相担体への固定方法を提供する

。

【解決手段】 光反応性化合物が表面に結合している固相担体に、低分子化合物を含む溶液を接触させる工程、低分子化合物を含む溶液を、固相担体に接触させた状態で乾固させる工程、及び固相担体に光を照射し、光反応性化合物と低分子化合物との間に共有結合を形成させる工程を含む低分子化合物の固相担体への固定方法。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届 (一般承継)  
【提出日】 平成15年12月 1日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【事件の表示】  
【出願番号】 特願2003-104928  
【承継人】  
【識別番号】 503359821  
【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号  
【氏名又は名称】 独立行政法人理化学研究所  
【承継人代理人】  
【識別番号】 100075812  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 吉武 賢次  
【提出物件の目録】  
【物件名】 権利の承継を証明する書面 1  
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件  
にかか一般承継による特許権の移転登録申請書  
【物件名】 登記簿謄本 1  
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件  
にかか一般承継による特許権の移転登録申請書  
【物件名】 委任状 1

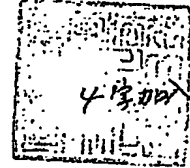
【物件名】

委任状

【添付書類】



委 任 状



私は、

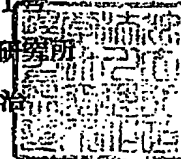
識別番号 100075812 弁理士 吉 武 賢 次 氏  
を代理人と定めて下記事項を委任する。

1. <sup>954件</sup>別紙目録に記載の特許出願に関する出願人名義変更届をする件
2. 上記各項の手続を処理するため復代理人を選任及び解任する件

以 上

平成 / 5 年 / 1 月 / 3 日

住所又は居所 埼玉県和光市広沢2番1号  
氏名又は名称 独立行政法人 理化学研究所  
代 表 者 理事長 野 依 良 浩



## 目録(1)

- |                                 |                   |
|---------------------------------|-------------------|
| 1. 特願昭63-235737                 | 51. 特願平07-327372  |
| 2. 特願平05-044143                 | 52. 特願平08-000652  |
| 3. 特願平05-127257                 | 53. 特願平08-026368  |
| 4. 特願平05-127258                 | 54. 特願平08-030850  |
| 5. 特願平05-213675                 | 55. 特願平08-041279  |
| 6. 特願平05-306184                 | 56. 特願平08-045903  |
| 7. 特願平05-328611                 | 57. 特願平08-051604  |
| 8. 特願平05-336746                 | 58. 特願平08-065715  |
| 9. 特願平06-035100                 | 59. 特願平08-070071  |
| 10. 特願平06-061792                | 60. 特願平08-105667  |
| 11. 特願平06-061793                | 61. 特願平08-107784  |
| 12. 特願平06-069150                | 62. 特願平08-116473  |
| 13. 特願平06-097098                | 63. 特願平08-123475  |
| 14. 特願平06-111624                | 64. 特願平08-127005  |
| 15. 特願平06-121100                | 65. 特願平08-131746  |
| 16. 特願平06-145908                | 66. 特願平08-132846  |
| 17. 特願平06-158670                | 67. 特願平08-132854  |
| 18. 特願平06-158671                | 68. 特願平08-142676  |
| 19. 特願平06-165751                | 69. 特願平08-158078  |
| 20. 特願平06-165752                | 70. 特願平08-167401  |
| 21. 特願平06-181857                | 71. 特願平08-196331  |
| 22. 特願平06-235742                | 72. 特願平08-197050  |
| 23. 特願平06-238603                | 73. 特願平08-197051  |
| 24. 特願平06-244764                | 74. 特願平08-211946  |
| 25. 特願平06-248486                | 75. 特願平08-216506  |
| 26. 特願平06-252942                | 76. 特願平08-216508  |
| 27. 特願平06-268723                | 77. 特願平08-222352  |
| 28. 特願平06-293933                | 78. 特願平08-231066  |
| 29. 特願平06-301372                | 79. 特願平08-233442  |
| 30. 特願平06-323795                | 80. 特願平08-236685  |
| 31. 特願平06-324490                | 81. 特願平08-251410  |
| 32. 特願平06-507966 (不審2002-12420) | 82. 特願平08-262051  |
| 33. 特願平07-007185                | 83. 特願平08-302896  |
| 34. 特願平07-069255                | 84. 特願平08-308335  |
| 35. 特願平07-082880                | 85. 特願平08-308336  |
| 36. 特願平07-083142                | 86. 特願平08-311467  |
| 37. 特願平07-117933                | 87. 特願平08-315093  |
| 38. 特願平07-133487                | 88. 特願平08-317622  |
| 39. 特願平07-205141                | 89. 特願平08-320241  |
| 40. 特願平07-214659                | 90. 特願平08-506395  |
| 41. 特願平07-217276                | 91. 特願平09-002295  |
| 42. 特願平07-236185                | 92. 特願平09-010602  |
| 43. 特願平07-240684                | 93. 特願平09-019968  |
| 44. 特願平07-249244                | 94. 特願平09-019969  |
| 45. 特願平07-259922                | 95. 特願平09-019971  |
| 46. 特願平07-282716                | 96. 特願平09-024890  |
| 47. 特願平07-302793                | 97. 特願平09-028982  |
| 48. 特願平07-306004                | 98. 特願平09-046824  |
| 49. 特願平07-311711                | 99. 特願平09-049254  |
| 50. 特願平07-311715                | 100. 特願平09-053478 |

## 目 録 (2)

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 101. 特願平 09-054595 | 151. 特願平 10-045434 |
| 102. 特願平 09-056654 | 152. 特願平 10-049499 |
| 103. 特願平 09-057342 | 153. 特願平 10-049867 |
| 104. 特願平 09-058774 | 154. 特願平 10-051489 |
| 105. 特願平 09-067611 | 155. 特願平 10-051490 |
| 106. 特願平 09-074394 | 156. 特願平 10-051491 |
| 107. 特願平 09-080480 | 157. 特願平 10-051492 |
| 108. 特願平 09-082965 | 158. 特願平 10-051493 |
| 109. 特願平 09-091523 | 159. 特願平 10-060740 |
| 110. 特願平 09-091591 | 160. 特願平 10-060741 |
| 111. 特願平 09-091694 | 161. 特願平 10-061895 |
| 112. 特願平 09-096968 | 162. 特願平 10-076139 |
| 113. 特願平 09-099061 | 163. 特願平 10-085207 |
| 114. 特願平 09-099109 | 164. 特願平 10-085208 |
| 115. 特願平 09-104093 | 165. 特願平 10-103083 |
| 116. 特願平 09-119730 | 166. 特願平 10-103115 |
| 117. 特願平 09-129068 | 167. 特願平 10-103671 |
| 118. 特願平 09-134525 | 168. 特願平 10-104093 |
| 119. 特願平 09-147964 | 169. 特願平 10-113493 |
| 120. 特願平 09-155364 | 170. 特願平 10-116378 |
| 121. 特願平 09-159963 | 171. 特願平 10-121456 |
| 122. 特願平 09-163630 | 172. 特願平 10-127520 |
| 123. 特願平 09-163631 | 173. 特願平 10-136198 |
| 124. 特願平 09-171924 | 174. 特願平 10-149603 |
| 125. 特願平 09-175896 | 175. 特願平 10-150494 |
| 126. 特願平 09-180423 | 176. 特願平 10-151245 |
| 127. 特願平 09-189436 | 177. 特願平 10-155838 |
| 128. 特願平 09-198201 | 178. 特願平 10-155841 |
| 129. 特願平 09-208866 | 179. 特願平 10-156104 |
| 130. 特願平 09-221067 | 180. 特願平 10-156108 |
| 131. 特願平 09-228345 | 181. 特願平 10-198313 |
| 132. 特願平 09-230870 | 182. 特願平 10-200280 |
| 133. 特願平 09-253740 | 183. 特願平 10-217132 |
| 134. 特願平 09-256795 | 184. 特願平 10-217180 |
| 135. 特願平 09-271782 | 185. 特願平 10-222837 |
| 136. 特願平 09-291995 | 186. 特願平 10-227939 |
| 137. 特願平 09-297084 | 187. 特願平 10-229591 |
| 138. 特願平 09-307627 | 188. 特願平 10-232520 |
| 139. 特願平 09-308597 | 189. 特願平 10-232590 |
| 140. 特願平 09-309848 | 190. 特願平 10-236009 |
| 141. 特願平 09-327140 | 191. 特願平 10-237485 |
| 142. 特願平 09-327609 | 192. 特願平 10-238144 |
| 143. 特願平 09-328742 | 193. 特願平 10-245293 |
| 144. 特願平 09-360327 | 194. 特願平 10-250598 |
| 145. 特願平 10-002030 | 195. 特願平 10-250611 |
| 146. 特願平 10-010471 | 196. 特願平 10-252128 |
| 147. 特願平 10-014152 | 197. 特願平 10-260347 |
| 148. 特願平 10-015690 | 198. 特願平 10-260416 |
| 149. 特願平 10-024892 | 199. 特願平 10-268791 |
| 150. 特願平 10-043335 | 200. 特願平 10-269859 |

## 目 録 (3)

- |                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| 201. 特願平 10-272529 | 251. 特願平 11-135137  |
| 202. 特願平 10-280351 | 252. 特願平 11-135482  |
| 203. 特願平 10-308533 | 253. 特願平 11-143429  |
| 204. 特願平 10-309765 | 254. 特願平 11-144005  |
| 205. 特願平 10-311673 | 255. 特願平 11-147097  |
| 206. 特願平 10-311674 | 256. 特願平 11-151099  |
| 207. 特願平 10-311675 | 257. 特願平 11-166247  |
| 208. 特願平 10-314856 | 258. 特願平 11-173839  |
| 209. 特願平 10-315751 | 259. 特願平 11-179278  |
| 210. 特願平 10-338896 | 260. 特願平 11-186052  |
| 211. 特願平 10-338897 | 281. 特願平 11-193235  |
| 212. 特願平 10-338898 | 262. 特願平 11-224269  |
| 213. 特願平 10-338899 | 283. 特願平 11-225060  |
| 214. 特願平 10-352428 | 264. 特願平 11-225832  |
| 215. 特願平 10-354665 | 265. 特願平 11-225839  |
| 216. 特願平 10-363297 | 266. 特願平 11-226176  |
| 217. 特願平 10-363329 | 267. 特願平 11-234800  |
| 218. 特願平 10-506788 | 268. 特願平 11-240325  |
| 219. 特願平 10-532832 | 269. 特願平 11-240910  |
| 220. 特願平 10-535583 | 270. 特願平 11-241737  |
| 221. 特願平 11-008183 | 271. 特願平 11-242438  |
| 222. 特願平 11-013380 | 272. 特願平 11-242490  |
| 223. 特願平 11-015176 | 273. 特願平 11-253851  |
| 224. 特願平 11-031724 | 274. 特願平 11-260947  |
| 225. 特願平 11-035776 | 275. 特願平 11-277759  |
| 226. 特願平 11-046372 | 276. 特願平 11-278976  |
| 227. 特願平 11-055835 | 277. 特願平 11-279324  |
| 228. 特願平 11-055867 | 278. 特願平 11-281632  |
| 229. 特願平 11-055930 | 279. 特願平 11-303976  |
| 230. 特願平 11-056957 | 280. 特願平 11-309616  |
| 231. 特願平 11-057381 | 281. 特願平 11-315036  |
| 232. 特願平 11-057749 | 282. 特願平 11-321282  |
| 233. 特願平 11-058103 | 283. 特願平 11-336079  |
| 234. 特願平 11-061079 | 284. 特願平 11-346467  |
| 235. 特願平 11-061080 | 285. 特願平 11-354563  |
| 236. 特願平 11-064193 | 286. 特願平 11-360274  |
| 237. 特願平 11-064372 | 287. 特願平 11-365899  |
| 238. 特願平 11-064506 | 288. 特願平 11-373483  |
| 239. 特願平 11-065136 | 289. 特願平 11-510791  |
| 240. 特願平 11-074385 | 290. 特願平 11-515324  |
| 241. 特願平 11-081225 | 291. 特願 2000-001783 |
| 242. 特願平 11-090383 | 292. 特願 2000-005221 |
| 243. 特願平 11-091875 | 293. 特願 2000-009363 |
| 244. 特願平 11-103231 | 294. 特願 2000-010516 |
| 245. 特願平 11-104509 | 295. 特願 2000-011147 |
| 246. 特願平 11-106920 | 296. 特願 2000-011623 |
| 247. 特願平 11-124187 | 297. 特願 2000-016518 |
| 248. 特願平 11-130771 | 298. 特願 2000-016622 |
| 249. 特願平 11-130814 | 299. 特願 2000-017112 |
| 250. 特願平 11-130815 | 300. 特願 2000-018612 |

## 目録(4)

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 301. 特願2000-019195 | 351. 特願2000-141763 |
| 302. 特願2000-019528 | 352. 特願2000-148843 |
| 303. 特願2000-020067 | 353. 特願2000-152455 |
| 304. 特願2000-030321 | 354. 特願2000-152469 |
| 305. 特願2000-034109 | 355. 特願2000-154484 |
| 306. 特願2000-039082 | 356. 特願2000-161895 |
| 307. 特願2000-040355 | 357. 特願2000-163122 |
| 308. 特願2000-041927 | 358. 特願2000-164584 |
| 309. 特願2000-041929 | 359. 特願2000-179723 |
| 310. 特願2000-045318 | 360. 特願2000-181281 |
| 311. 特願2000-045855 | 361. 特願2000-184259 |
| 312. 特願2000-051488 | 362. 特願2000-184295 |
| 313. 特願2000-051650 | 363. 特願2000-191007 |
| 314. 特願2000-052040 | 364. 特願2000-191265 |
| 315. 特願2000-053707 | 365. 特願2000-192332 |
| 316. 特願2000-054949 | 366. 特願2000-193817 |
| 317. 特願2000-056093 | 367. 特願2000-195384 |
| 318. 特願2000-056879 | 368. 特願2000-196991 |
| 319. 特願2000-057564 | 369. 特願2000-197022 |
| 320. 特願2000-057565 | 370. 特願2000-202801 |
| 321. 特願2000-057566 | 371. 特願2000-216457 |
| 322. 特願2000-058133 | 372. 特願2000-223714 |
| 323. 特願2000-058282 | 373. 特願2000-224970 |
| 324. 特願2000-062316 | 374. 特願2000-225486 |
| 325. 特願2000-064142 | 375. 特願2000-225864 |
| 326. 特願2000-064209 | 376. 特願2000-225978 |
| 327. 特願2000-071119 | 377. 特願2000-226361 |
| 328. 特願2000-076122 | 378. 特願2000-229191 |
| 329. 特願2000-085874 | 379. 特願2000-230551 |
| 330. 特願2000-089078 | 380. 特願2000-237165 |
| 331. 特願2000-092693 | 381. 特願2000-237166 |
| 332. 特願2000-100395 | 382. 特願2000-237533 |
| 333. 特願2000-105139 | 383. 特願2000-246309 |
| 334. 特願2000-105917 | 384. 特願2000-248331 |
| 335. 特願2000-107160 | 385. 特願2000-249232 |
| 336. 特願2000-108409 | 386. 特願2000-256149 |
| 337. 特願2000-109638 | 387. 特願2000-257080 |
| 338. 特願2000-109954 | 388. 特願2000-257083 |
| 339. 特願2000-118361 | 389. 特願2000-260030 |
| 340. 特願2000-120874 | 390. 特願2000-261233 |
| 341. 特願2000-123634 | 391. 特願2000-264743 |
| 342. 特願2000-128431 | 392. 特願2000-265344 |
| 343. 特願2000-131049 | 393. 特願2000-278502 |
| 344. 特願2000-131050 | 394. 特願2000-279557 |
| 345. 特願2000-131745 | 395. 特願2000-292422 |
| 346. 特願2000-134427 | 396. 特願2000-292832 |
| 347. 特願2000-136551 | 397. 特願2000-299812 |
| 348. 特願2000-136572 | 398. 特願2000-307464 |
| 349. 特願2000-138977 | 399. 特願2000-308248 |
| 350. 特願2000-141566 | 400. 特願2000-309581 |

## 目 録 (5)

- |                     |                     |
|---------------------|---------------------|
| 401. 特願 2000-319775 | 451. 特願 2001-071435 |
| 402. 特願 2000-322056 | 452. 特願 2001-072650 |
| 403. 特願 2000-333311 | 453. 特願 2001-072668 |
| 404. 特願 2000-334686 | 454. 特願 2001-072963 |
| 405. 特願 2000-334969 | 455. 特願 2001-073028 |
| 406. 特願 2000-343912 | 456. 特願 2001-074964 |
| 407. 特願 2000-347398 | 457. 特願 2001-074965 |
| 408. 特願 2000-347865 | 458. 特願 2001-077257 |
| 409. 特願 2000-358121 | 459. 特願 2001-078671 |
| 410. 特願 2000-368566 | 460. 特願 2001-084173 |
| 411. 特願 2000-374826 | 461. 特願 2001-089541 |
| 412. 特願 2000-375090 | 462. 特願 2001-091911 |
| 413. 特願 2000-378421 | 463. 特願 2001-092337 |
| 414. 特願 2000-378942 | 464. 特願 2001-116171 |
| 415. 特願 2000-378950 | 465. 特願 2001-124294 |
| 416. 特願 2000-384771 | 466. 特願 2001-124452 |
| 417. 特願 2000-387016 | 467. 特願 2001-127575 |
| 418. 特願 2000-394815 | 468. 特願 2001-127576 |
| 419. 特願 2000-396445 | 469. 特願 2001-135357 |
| 420. 特願 2000-399940 | 470. 特願 2001-137087 |
| 421. 特願 2000-400336 | 471. 特願 2001-138103 |
| 422. 特願 2000-401110 | 472. 特願 2001-142583 |
| 423. 特願 2000-401245 | 473. 特願 2001-147081 |
| 424. 特願 2000-401258 | 474. 特願 2001-152364 |
| 425. 特願 2000-503838 | 475. 特願 2001-152379 |
| 426. 特願 2000-571733 | 476. 特願 2001-153447 |
| 427. 特願 2000-571943 | 477. 特願 2001-155572 |
| 428. 特願 2000-602588 | 478. 特願 2001-163740 |
| 429. 特願 2000-602900 | 479. 特願 2001-164819 |
| 430. 特願 2000-618709 | 480. 特願 2001-164997 |
| 431. 特願 2001-003476 | 481. 特願 2001-165133 |
| 432. 特願 2001-005615 | 482. 特願 2001-167910 |
| 433. 特願 2001-007979 | 483. 特願 2001-168784 |
| 434. 特願 2001-016626 | 484. 特願 2001-171705 |
| 435. 特願 2001-025030 | 485. 特願 2001-173331 |
| 436. 特願 2001-037141 | 486. 特願 2001-174421 |
| 437. 特願 2001-037147 | 487. 特願 2001-174553 |
| 438. 特願 2001-042501 | 488. 特願 2001-175898 |
| 439. 特願 2001-044933 | 489. 特願 2001-176169 |
| 440. 特願 2001-047762 | 490. 特願 2001-179858 |
| 441. 特願 2001-050645 | 491. 特願 2001-180552 |
| 442. 特願 2001-053550 | 492. 特願 2001-180554 |
| 443. 特願 2001-054717 | 493. 特願 2001-187735 |
| 444. 特願 2001-059115 | 494. 特願 2001-197185 |
| 445. 特願 2001-059892 | 495. 特願 2001-197897 |
| 446. 特願 2001-060848 | 496. 特願 2001-200854 |
| 447. 特願 2001-062703 | 497. 特願 2001-201356 |
| 448. 特願 2001-065799 | 498. 特願 2001-202971 |
| 449. 特願 2001-065917 | 499. 特願 2001-203089 |
| 450. 特願 2001-068285 | 500. 特願 2001-206505 |

## 目録(6)

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 501. 特願2001-206522 | 551. 特願2001-325367 |
| 502. 特願2001-206523 | 552. 特願2001-326872 |
| 503. 特願2001-209305 | 553. 特願2001-327853 |
| 504. 特願2001-212947 | 554. 特願2001-329023 |
| 505. 特願2001-216505 | 555. 特願2001-332168 |
| 506. 特願2001-220219 | 556. 特願2001-337467 |
| 507. 特願2001-226176 | 557. 特願2001-339396 |
| 508. 特願2001-228287 | 558. 特願2001-339593 |
| 509. 特願2001-228374 | 559. 特願2001-346035 |
| 510. 特願2001-235412 | 560. 特願2001-347316 |
| 511. 特願2001-235747 | 561. 特願2001-347637 |
| 512. 特願2001-238951 | 562. 特願2001-349614 |
| 513. 特願2001-241023 | 563. 特願2001-351730 |
| 514. 特願2001-243930 | 564. 特願2001-352189 |
| 515. 特願2001-246642 | 565. 特願2001-353038 |
| 516. 特願2001-249976 | 566. 特願2001-358446 |
| 517. 特願2001-254377 | 567. 特願2001-358581 |
| 518. 特願2001-254378 | 568. 特願2001-359710 |
| 519. 特願2001-255589 | 569. 特願2001-374928 |
| 520. 特願2001-256576 | 570. 特願2001-376591 |
| 521. 特願2001-257188 | 571. 特願2001-378757 |
| 522. 特願2001-261158 | 572. 特願2001-380473 |
| 523. 特願2001-266004 | 573. 特願2001-382537 |
| 524. 特願2001-266069 | 574. 特願2001-382539 |
| 525. 特願2001-266454 | 575. 特願2001-382599 |
| 526. 特願2001-267194 | 576. 特願2001-385258 |
| 527. 特願2001-267379 | 577. 特願2001-385512 |
| 528. 特願2001-267863 | 578. 特願2001-385513 |
| 529. 特願2001-272977 | 579. 特願2001-385538 |
| 530. 特願2001-273964 | 580. 特願2001-388116 |
| 531. 特願2001-276053 | 581. 特願2001-390122 |
| 532. 特願2001-279406 | 582. 特願2001-392087 |
| 533. 特願2001-280319 | 583. 特願2001-392088 |
| 534. 特願2001-285145 | 584. 特願2001-395196 |
| 535. 特願2001-291059 | 585. 特願2001-396120 |
| 536. 特願2001-292223 | 586. 特願2001-397762 |
| 537. 特願2001-292224 | 587. 特願2001-397998 |
| 538. 特願2001-293000 | 588. 特願2001-401139 |
| 539. 特願2001-293054 | 589. 特願2001-515803 |
| 540. 特願2001-293936 | 590. 特願2001-523852 |
| 541. 特願2001-294013 | 591. 特願2001-557672 |
| 542. 特願2001-298140 | 592. 特願2002-000993 |
| 543. 特願2001-298402 | 593. 特願2002-005746 |
| 544. 特願2001-307340 | 594. 特願2002-010344 |
| 545. 特願2001-309501 | 595. 特願2002-011558 |
| 546. 特願2001-309608 | 596. 特願2002-019752 |
| 547. 特願2001-309984 | 597. 特願2002-020329 |
| 548. 特願2001-310554 | 598. 特願2002-022499 |
| 549. 特願2001-313430 | 599. 特願2002-028046 |
| 550. 特願2001-319360 | 600. 特願2002-028109 |

## 目 録 (7)

- |                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 601. 特願 2002-040151  | 651. 特願 2002-162157 |
| 602. 特願 2002-042829  | 652. 特願 2002-162211 |
| 603. 特願 2002-044340  | 653. 特願 2002-162365 |
| 604. 特願 2002-044640  | 654. 特願 2002-167759 |
| 605. 特願 2002-046188  | 655. 特願 2002-170068 |
| 606. 特願 2002-047799  | 656. 特願 2002-170902 |
| 607. 特願 2002-053190  | 657. 特願 2002-176435 |
| 608. 特願 2002-053575  | 658. 特願 2002-176583 |
| 609. 特願 2002-055272  | 659. 特願 2002-183722 |
| 610. 特願 2002-057253  | 660. 特願 2002-185966 |
| 611. 特願 2002-057565  | 661. 特願 2002-187362 |
| 612. 特願 2002-057935  | 662. 特願 2002-187957 |
| 613. 特願 2002-057963  | 663. 特願 2002-188281 |
| 614. 特願 2002-066249  | 664. 特願 2002-189265 |
| 615. 特願 2002-070624  | 665. 特願 2002-194627 |
| 616. 特願 2002-070987  | 666. 特願 2002-197812 |
| 617. 特願 2002-071924  | 667. 特願 2002-201443 |
| 618. 特願 2002-074902  | 668. 特願 2002-201575 |
| 619. 特願 2002-078164  | 669. 特願 2002-202118 |
| 620. 特願 2002-081467  | 670. 特願 2002-205814 |
| 621. 特願 2002-081502  | 671. 特願 2002-205825 |
| 622. 特願 2002-083081  | 672. 特願 2002-217714 |
| 623. 特願 2002-084139  | 673. 特願 2002-221188 |
| 624. 特願 2002-085017  | 674. 特願 2002-225469 |
| 625. 特願 2002-087342  | 675. 特願 2002-225724 |
| 626. 特願 2002-094681  | 676. 特願 2002-226859 |
| 627. 特願 2002-095132  | 677. 特願 2002-227286 |
| 628. 特願 2002-095389  | 678. 特願 2002-229686 |
| 629. 特願 2002-100431  | 679. 特願 2002-230562 |
| 630. 特願 2002-106561  | 680. 特願 2002-235294 |
| 631. 特願 2002-1119320 | 681. 特願 2002-235737 |
| 632. 特願 2002-120371  | 682. 特願 2002-236838 |
| 633. 特願 2002-123347  | 683. 特願 2002-237058 |
| 634. 特願 2002-128854  | 684. 特願 2002-237092 |
| 635. 特願 2002-133717  | 685. 特願 2002-248946 |
| 636. 特願 2002-133749  | 686. 特願 2002-253322 |
| 637. 特願 2002-134313  | 687. 特願 2002-253689 |
| 638. 特願 2002-141187  | 688. 特願 2002-253697 |
| 639. 特願 2002-141438  | 689. 特願 2002-254096 |
| 640. 特願 2002-142260  | 690. 特願 2002-257924 |
| 641. 特願 2002-149471  | 691. 特願 2002-260788 |
| 642. 特願 2002-149931  | 692. 特願 2002-261499 |
| 643. 特願 2002-150541  | 693. 特願 2002-264969 |
| 644. 特願 2002-154688  | 694. 特願 2002-267114 |
| 645. 特願 2002-154695  | 695. 特願 2002-268987 |
| 646. 特願 2002-154823  | 696. 特願 2002-270917 |
| 647. 特願 2002-158237  | 697. 特願 2002-271375 |
| 648. 特願 2002-158352  | 698. 特願 2002-271473 |
| 649. 特願 2002-160277  | 699. 特願 2002-273996 |
| 650. 特願 2002-162148  | 700. 特願 2002-274469 |

## 目録(8)

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 701. 特願2002-276051 | 751. 特願2003-012738 |
| 702. 特願2002-282746 | 752. 特願2003-012774 |
| 703. 特願2002-286487 | 753. 特願2003-015968 |
| 704. 特願2002-289209 | 754. 特願2003-016044 |
| 705. 特願2002-295332 | 755. 特願2003-016940 |
| 706. 特願2002-296911 | 756. 特願2003-017397 |
| 707. 特願2002-299429 | 757. 特願2003-021499 |
| 708. 特願2002-301875 | 758. 特願2003-024347 |
| 709. 特願2002-303838 | 759. 特願2003-024620 |
| 710. 特願2002-312131 | 760. 特願2003-025277 |
| 711. 特願2002-320102 | 761. 特願2003-027647 |
| 712. 特願2002-320704 | 762. 特願2003-027648 |
| 713. 特願2002-325909 | 763. 特願2003-031882 |
| 714. 特願2002-325920 | 764. 特願2003-032932 |
| 715. 特願2002-332232 | 765. 特願2003-038206 |
| 716. 特願2002-339344 | 766. 特願2003-040642 |
| 717. 特願2002-339392 | 767. 特願2003-043961 |
| 718. 特願2002-339541 | 768. 特願2003-050153 |
| 719. 特願2002-339551 | 769. 特願2003-050446 |
| 720. 特願2002-341195 | 770. 特願2003-052520 |
| 721. 特願2002-343807 | 771. 特願2003-052602 |
| 722. 特願2002-344279 | 772. 特願2003-052613 |
| 723. 特願2002-345597 | 773. 特願2003-052877 |
| 724. 特願2002-347401 | 774. 特願2003-053023 |
| 725. 特願2002-348760 | 775. 特願2003-054182 |
| 726. 特願2002-349042 | 776. 特願2003-054798 |
| 727. 特願2002-354594 | 777. 特願2003-054799 |
| 728. 特願2002-357768 | 778. 特願2003-054846 |
| 729. 特願2002-357900 | 779. 特願2003-054847 |
| 730. 特願2002-358019 | 780. 特願2003-054848 |
| 731. 特願2002-358967 | 781. 特願2003-054849 |
| 732. 特願2002-360972 | 782. 特願2003-055452 |
| 733. 特願2002-360975 | 783. 特願2003-056628 |
| 734. 特願2002-368112 | 784. 特願2003-061426 |
| 735. 特願2002-376555 | 785. 特願2003-063532 |
| 736. 特願2002-376774 | 786. 特願2003-065013 |
| 737. 特願2002-376831 | 787. 特願2003-071028 |
| 738. 特願2002-379214 | 788. 特願2003-072979 |
| 739. 特願2002-380624 | 789. 特願2003-074168 |
| 740. 特願2002-381888 | 790. 特願2003-076107 |
| 741. 特願2002-382170 | 791. 特願2003-078999 |
| 742. 特願2002-383870 | 792. 特願2003-079598 |
| 743. 特願2002-521644 | 793. 特願2003-079613 |
| 744. 特願2002-532458 | 794. 特願2003-082466 |
| 745. 特願2002-546564 | 795. 特願2003-083318 |
| 746. 特願2002-548185 | 796. 特願2003-083433 |
| 747. 特願2002-570743 | 797. 特願2003-083480 |
| 748. 特願2003-003450 | 798. 特願2003-085193 |
| 749. 特願2003-012550 | 799. 特願2003-089026 |
| 750. 特願2003-012694 | 800. 特願2003-090331 |

## 目録(9)

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 801. 特願2003-091446 | 851. 特願2003-127135 |
| 802. 特願2003-092654 | 852. 特願2003-127150 |
| 803. 特願2003-093642 | 853. 特願2003-128818 |
| 804. 特願2003-094272 | 854. 特願2003-128897 |
| 805. 特願2003-094719 | 855. 特願2003-129347 |
| 806. 特願2003-095770 | 856. 特願2003-131313 |
| 807. 特願2003-095884 | 857. 特願2003-132280 |
| 808. 特願2003-095885 | 858. 特願2003-132605 |
| 809. 特願2003-095886 | 859. 特願2003-132806 |
| 810. 特願2003-095904 | 860. 特願2003-135591 |
| 811. 特願2003-097283 | 861. 特願2003-136445 |
| 812. 特願2003-097327 | 862. 特願2003-139397 |
| 813. 特願2003-101917 | 863. 特願2003-140684 |
| 814. 特願2003-104928 | 864. 特願2003-142303 |
| 815. 特願2003-105362 | 865. 特願2003-143932 |
| 816. 特願2003-107267 | 866. 特願2003-145221 |
| 817. 特願2003-107268 | 867. 特願2003-145390 |
| 818. 特願2003-107647 | 868. 特願2003-147820 |
| 819. 特願2003-107885 | 869. 特願2003-150690 |
| 820. 特願2003-109575 | 870. 特願2003-153014 |
| 821. 特願2003-115750 | 871. 特願2003-153015 |
| 822. 特願2003-115793 | 872. 特願2003-153016 |
| 823. 特願2003-115847 | 873. 特願2003-153985 |
| 824. 特願2003-115888 | 874. 特願2003-154009 |
| 825. 特願2003-116232 | 875. 特願2003-154841 |
| 826. 特願2003-116895 | 876. 特願2003-155397 |
| 827. 特願2003-118161 | 877. 特願2003-155407 |
| 828. 特願2003-118186 | 878. 特願2003-158017 |
| 829. 特願2003-119749 | 879. 特願2003-161005 |
| 830. 特願2003-119930 | 880. 特願2003-164126 |
| 831. 特願2003-120934 | 881. 特願2003-170051 |
| 832. 特願2003-121233 | 882. 特願2003-170324 |
| 833. 特願2003-121261 | 883. 特願2003-170325 |
| 834. 特願2003-121273 | 884. 特願2003-170326 |
| 835. 特願2003-121780 | 885. 特願2003-170327 |
| 836. 特願2003-122245 | 886. 特願2003-170328 |
| 837. 特願2003-123984 | 887. 特願2003-170329 |
| 838. 特願2003-124654 | 888. 特願2003-170330 |
| 839. 特願2003-124655 | 889. 特願2003-170573 |
| 840. 特願2003-124826 | 890. 特願2003-171576 |
| 841. 特願2003-124829 | 891. 特願2003-171619 |
| 842. 特願2003-124833 | 892. 特願2003-172898 |
| 843. 特願2003-124835 | 893. 特願2003-175819 |
| 844. 特願2003-125388 | 894. 特願2003-177298 |
| 845. 特願2003-125403 | 895. 特願2003-180198 |
| 846. 特願2003-125405 | 896. 特願2003-182958 |
| 847. 特願2003-127090 | 897. 特願2003-192763 |
| 848. 特願2003-127093 | 898. 特願2003-192775 |
| 849. 特願2003-127109 | 899. 特願2003-194837 |
| 850. 特願2003-127130 | 900. 特願2003-197229 |

目 録 (10)

- |                     |                     |
|---------------------|---------------------|
| 901. 特願 2003-198340 | 951. 特願 2003-338191 |
| 902. 特願 2003-204075 | 952. 特願 2003-339542 |
| 903. 特願 2003-205349 | 953. 特願 2003-340181 |
| 904. 特願 2003-205710 | 954. 特願 2003-342519 |
| 905. 特願 2003-206546 |                     |
| 906. 特願 2003-207698 |                     |
| 907. 特願 2003-207771 |                     |
| 908. 特願 2003-207772 |                     |
| 909. 特願 2003-207850 |                     |
| 910. 特願 2003-270049 |                     |
| 911. 特願 2003-271473 |                     |
| 912. 特願 2003-272421 |                     |
| 913. 特願 2003-275055 |                     |
| 914. 特願 2003-277958 |                     |
| 915. 特願 2003-279130 |                     |
| 916. 特願 2003-283972 |                     |
| 917. 特願 2003-284055 |                     |
| 918. 特願 2003-286640 |                     |
| 919. 特願 2003-289138 |                     |
| 920. 特願 2003-293912 |                     |
| 921. 特願 2003-296474 |                     |
| 922. 特願 2003-298558 |                     |
| 923. 特願 2003-299424 |                     |
| 924. 特願 2003-303979 |                     |
| 925. 特願 2003-304452 |                     |
| 926. 特願 2003-304453 |                     |
| 927. 特願 2003-306689 |                     |
| 928. 特願 2003-305844 |                     |
| 929. 特願 2003-306137 |                     |
| 930. 特願 2003-307564 |                     |
| 931. 特願 2003-313014 |                     |
| 932. 特願 2003-315355 |                     |
| 933. 特願 2003-318801 |                     |
| 934. 特願 2003-321497 |                     |
| 935. 特願 2003-322948 |                     |
| 936. 特願 2003-324974 |                     |
| 937. 特願 2003-326510 |                     |
| 938. 特願 2003-327645 |                     |
| 939. 特願 2003-327907 |                     |
| 940. 特願 2003-328600 |                     |
| 941. 特願 2003-328840 |                     |
| 942. 特願 2003-330418 |                     |
| 943. 特願 2003-330569 |                     |
| 944. 特願 2003-331848 |                     |
| 945. 特願 2003-332756 |                     |
| 946. 特願 2003-333798 |                     |
| 947. 特願 2003-333932 |                     |
| 948. 特願 2003-334036 |                     |
| 949. 特願 2003-334083 |                     |
| 950. 特願 2003-336365 |                     |

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-104928
受付番号	20308550807
書類名	出願人名義変更届 (一般承継)
担当官	関 浩次 7475
作成日	平成16年 3月17日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状 (代理権を証明する書面)	1
---------	------------------	---

特願 2003-104928

出願人履歴情報

識別番号

[000006792]

1. 変更年月日

[変更理由]

住所

氏名

1990年 8月28日

新規登録

埼玉県和光市広沢2番1号

理化学研究所

特願 2003-104928

出願人履歴情報

識別番号

[503359821]

1. 変更年月日

2003年10月 1日

[変更理由]

新規登録

住 所

埼玉県和光市広沢2番1号

氏 名

独立行政法人理化学研究所